去外泌体胎牛血清（科研专用）

（货号：A1018-CFM）

[产品介绍]

去外泌体血清,由无菌采集的健康胎牛血清过滤而成，去除≥99%的胎牛血清内源外泌体，并与处理前的胎牛血清具相同的细胞生长速率和形态。

[适用范围]

细胞体外增殖培养，收获目标细胞的外泌体。

[使用方法]

不要长期暴露在光下保存，请室温解冻后，分装使用。
需在无菌的环境操作，过程应减少飞溅，避免污染。

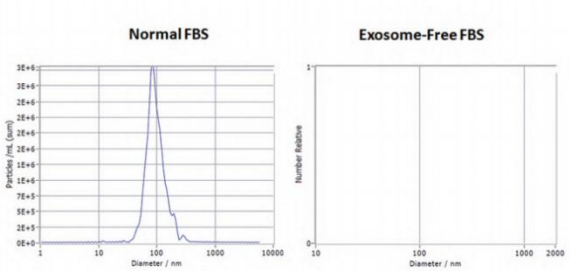
【包装规格】

50mL/瓶、100mL/瓶 、500ml/瓶

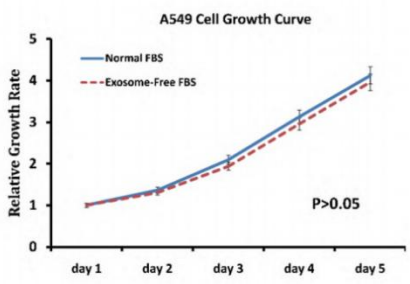
【储存条件及保质期]

应储存在-10~-20℃，无自动化霜冰箱中。
有效期为5年。

【产品质检】



NTA对比图



细胞生长测试

[注意事项]

如有以下情形，请勿使用

1. 试剂包装有破损
2. 溶液浑浊，有污染的疑虑
3. 使用时已超出规定有效期
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

[声明]

仅用于科研或进一步加工生产，不能用于人类或兽类的诊断治疗。

去外泌体细胞培养与收集说明

基础培养基（如RPMI-1640）+ 纯化外泌体（10-100 μg/mL），无血清成分干扰。

一：细胞培养

血清稀释与复配

1.含外泌体FBS：按10%-20%比例添加至基础培养基（如RPMI-1640），剩余80%-90%为无外泌体FBS或基础培养基（避免外泌体过量导致细胞应激）。

2.外泌体复配培养基：直接加入纯化外泌体（终浓度10-50 μg/mL），用基础培养基定容至100 mL。

细胞接种与培养

1.接种密度：EMT6细胞建议接种密度为1×10^4 5×10^4 cells/well（96孔板）或1×10^5 5×10^5 cells/well（6孔板），确保细胞处于对数生长期。

2.培养条件：37℃、5% CO_2 ，每24-48小时换液一次，观察细胞形态（贴壁状态、密度、有无皱缩）。

外泌体作用验证

1.设置对照组：正常FBS组（含内源性外泌体）、去外泌体FBS组（无外泌体）、外泌体补充组（去外泌体FBS+纯化外泌体），对比细胞增殖（CCK-8）、迁移（Transwell）、侵袭（Matrigel）差异。

2.检测指标：细胞周期（流式细胞术）、增殖信号通路（Western Blot检测AKT、ERK磷酸化水平）、外泌体摄取（荧光标记外泌体+共聚焦显微镜）。

细胞培养收集使用步骤

1、细胞复苏及传代:细胞复苏后使用完全培养基培养2~3代至细胞生产状态正常;
2、阶段培养一:待细胞汇合度约为50%时，移去原有完全培养基，添加新培养基(5%-20%外泌体血清+基础培养基+50%完全培养基);
3、阶段培养二:待细胞在梯度培养一中生长汇合度约为70-80%时，移去原有的(5%-20%外泌体血清+基础培养基+50%完全培养基;
4、使用1xPBS溶液将细胞润洗2~3次;
5、加入(5%-20%外泌体血清+基础培养基继续培养24~48 h，待细胞汇合度到90%~100%时收取细胞培养上清液，该上清液即可用于外泌体提取实验。

二：外泌体功能研究（如miRNA传递、蛋白修饰）

外泌体血清的预处理

若使用含外泌体FBS，需先通过超速离心（100,000×g，70分钟）或超滤法（30kDa截留分子量）分离外泌体，再检测外泌体浓度（NTA颗粒计数、Western Blot检测CD63/TSG101）。若需“外泌体特异性血清”，可收集目标细胞（如EMT6）条件培养基，经超速离心纯化外泌体，复配至基础培养基中。

细胞外泌体摄取实验

荧光标记外泌体：用DiI、CFSE等荧光染料标记外泌体血清中的外泌体，加入细胞培养基（终浓度10-50 μg/mL），37℃孵育4-24小时。
检测摄取效率：共聚焦显微镜观察外泌体在细胞内的分布，流式细胞术定量细胞摄取率。
外泌体功能验证

miRNA传递：提取细胞总RNA，qPCR检测外泌体携带的miRNA（如EMT6来源的miR-21）是否在受体细胞中表达。
蛋白修饰：Western Blot检测外泌体携带的蛋白（如EGFR、MET）是否在细胞膜或胞质中表达上调。

三、关键注意事项

外泌体浓度控制

外泌体浓度过高（>100 μg/mL）可能导致细胞过度增殖、形态异常，甚至触发凋亡；浓度过低（<1 μg/mL）则无法观察到显著效应。建议通过预实验确定最佳浓度梯度（如1、10、50、100 μg/mL）。

外泌体纯度验证

使用前需通过NTA（纳米颗粒跟踪分析）、TEM（透射电镜）、Western Blot（检测外泌体标志蛋白CD63、TSG101，排除细胞膜蛋白CD14、Calnexin污染）验证外泌体纯度，避免血清中其他成分（如脂蛋白）干扰实验结果。

批次差异与稳定性

外泌体血清不同批次的外泌体浓度、miRNA谱可能存在差异，建议同一实验使用同一批次血清，或每次实验前检测外泌体浓度并标准化。
外泌体在血清中易失活，建议现用现配，避免长期4℃保存（外泌体结构可能降解）。

伦理与合规性

若使用人源外泌体血清（如患者血浆外泌体），需通过伦理审查，并确保外泌体来源合规（如知情同意、去标识化处理）。

四、常见问题与解决方案

问题	可能原因	解决方案
细胞在含外泌体血清中不增殖	外泌体浓度过低/血清失效	检测外泌体浓度（NTA），更换新鲜批次血清，补充纯化外泌体至目标浓度
细胞出现异常形态（皱缩、脱落）	外泌体过量刺激/血清污染	降低外泌体浓度（如稀释至50%），检测血清无菌性，更换无外泌体血清作为对照
外泌体摄取实验无信号	外泌体未标记/细胞无摄取机制	用荧光染料标记外泌体，检测细胞表面外泌体受体（如CD9、CD81）表达，优化孵育时间